

Биотестирование цитокинов у ВИЧ-инфицированных пациентов с туберкулезом

Шуралев Э.А.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань;
Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО
РМАНПО Минздрава России, г. Казань

Цель: оценка специфического клеточного иммунитета у ВИЧ-инфицированных пациентов с туберкулезом биотестированием гамма-интерферона (IFN- γ) и интерлейкина-2 (IL-2).

Материалы и методы. Материалом служили образцы проб крови ВИЧ-инфицированных пациентов с подтвержденным диагнозом на туберкулез (опыт) и потенциально здоровых лиц (контроль). Из крови выделяли чистую популяцию моноклеарных клеток периферической крови (МКПК) методом седиментации в градиенте плотности фиколл-урографина с плотностью 1,077 г/см³. Биотестирование цитокинов IFN- γ и IL-2 проводили используя метод иммуноферментных пятен (ELISPOT). Стимуляцию МКПК осуществляли тремя комбинациями рекомбинантных и структурных антигенов *M. tuberculosis*.

Результаты и обсуждение. В ходе выделения клеток из крови, концентрация МКПК в образцах варьировала от 38 до 112×10^5 кл./мл. Каждый образец суспензии МКПК подвергали разведению до финальной концентрации 250000 клеток в 0,1 мл культуральной среды.

При биотестировании IFN- γ как в опытной, так и контрольной группе, наблюдалась интенсивная выработка цитокина в ответ на воздействие митогена (положительный контроль биотестирования): $68,4 \pm 18,3$ и $63,2 \pm 16,6$ специфических пятен, соответственно ($p > 0,05$). При отсутствии активаторов (отрицательный контроль биотестирования) $5,8 \pm 4,3$ и $4,6 \pm 2,8$ пятен, соответственно ($p > 0,05$).

При использовании различных комбинаций антигена в опытной группе установлена выраженная активация синтеза IFN- γ – от $17,3 \pm 12,6$ до $27,4 \pm 11,3$

пятен, в то время как в контрольной группе – от $6,8 \pm 3,6$ до $9,8 \pm 4,9$ пятен ($p < 0,05$). Однако у 3 пациентов опытной группы не наблюдалось выраженного синтеза IFN- γ , что указывает на отсутствие или очень низкое содержание популяции сенсibilизированных лимфоцитов. Это, вероятнее всего, связано с тем, что у этих пациентов туберкулез был диагностирован впервые (т.е. новый случай).

При биотестировании цитокина IL-2 в обеих группах наблюдалась выраженная выработка IL-2 в ответ на воздействие митогена (положительный контроль биотестирования), со средним числом проявившихся пятен в диапазоне от 84 до >100 , при этом достоверного различия в группах не отмечалось ($p > 0,05$). В лунках отрицательного контроля биотестирования – $8,8 \pm 4,7$ (контроль) и $6,8 \pm 3,2$ (опыт) пятен ($p > 0,05$).

В опытной группе отмечалась выраженная активация синтеза IL-2 под действием антигенов – от $22,5 \pm 12,6$ до $43,4 \pm 19,3$ пятен, и отсутствие таковой в контрольной группе – $7,6 \pm 6,4$ пятен ($p < 0,05$). У одного пациента опытной группы не наблюдалось выраженного синтеза IL-2 в ответ ни к одному из антигенов, что указывает на отсутствие или очень низкое содержание популяции сенсibilизированных лимфоцитов. Однако у данного пациента был положительный ответ при биотестировании IFN- γ , что указывает на латентное течение заболевания.

Заключение. Биотестирование цитокинов методом ELISPOT обладает высокой чувствительностью и специфичностью при диагностической оценке специфического клеточного иммунитета у ВИЧ-пациентов с туберкулезом. Важное значение при этом имеют комбинации микобактериальных антигенов, используемых для провокации сенсibilизированных лимфоцитов отвечать синтезом IFN- γ и IL-2. Результаты проведенных исследований подтверждают значимость биотестирования цитокина IL-2 в диагностике острого туберкулеза или процесса обострения хронического туберкулеза.